

ALTERNATIVES À L'ÉLIMINATION DES POUSSINS MÂLES - Résumé

LE PROBLÈME

Au niveau mondial, on estime à **6,5 milliards le nombre de poussins mâles nouvellement éclos qui sont abattus chaque année** par broyage ou asphyxie (gazage), voire par d'autres méthodes non acceptables lorsqu'il n'existe pas de réglementation. Considérés comme inutiles par l'industrie de l'œuf, l'élimination des poussins mâles reflète un enjeu éthique majeur auquel est confrontée la filière, et traduit une problématique plus large : celle de l'hyperspécialisation des volailles, que ce soit pour la production d'œufs ou de viande de poulet, et des conséquences qu'elle entraîne sur le bien-être des oiseaux.

Les préoccupations croissantes des consommateurs ont conduit certains gouvernements à interdire l'élimination des poussins mâles, comme c'est le cas en France, en Allemagne et en Italie. Une interdiction à l'échelle de l'Union européenne pourrait être envisagée également. Il reste urgent de trouver des alternatives à cette pratique

RECOMMANDATIONS

CIWF est déterminé à mettre fin à l'élimination des poussins mâles d'un jour et demande :

- **Alternative à favoriser** : utilisation de **souches duales** avec de bons indicateurs de bien-être animal et élevage des poussins mâles pour leur viande dans des systèmes a minima alignés avec les exigences de l'ECC.
- Lorsque l'élevage de souches duales n'est pas possible, l'**ovo-sexage** et la destruction des œufs contenant des embryons mâles avant que ceux-ci ne développent leur sensibilité est une alternative acceptable.
 - ✓ D'après les dernières avancées scientifiques, **le sexage doit être réalisé avant que l'embryon ne puisse ressentir de la douleur**. Actuellement, la recherche indique que la perception de la douleur n'est physiquement pas possible avant le 7^{ème} jour embryonnaire (JE7). Nous recommandons donc aux acteurs souhaitant s'orienter vers l'ovo-sexage d'adopter une méthode réalisable **avant JE7** dès disponibilité sur le marché. En attendant, il est fortement recommandé de recourir aux méthodes les plus précoces possibles (actuellementment JE9)*.
 - ✓ Les méthodes les moins invasives sont préférables. Il est important que la méthode de sexage n'entraîne aucun dommage aux embryons qui survivront au-delà de l'âge de développement de la sensibilité, notamment qu'elle ne cause ni la mort ni d'éventuelles atteintes au bien-être des poussins qui éclosent.
 - ✓ La méthode de sexage doit être précise. Un taux de précision au moins égal à celui du sexage post-éclosion (soit 98,5%) est recommandé.
 - ✓ Tous les mâles nés à l'issue d'erreurs de sexage doivent être élevés dans des systèmes respectueux de leur bien-être (respectant a minima les exigences de l'[European Chicken Commitment](#))
 - ✓ La méthode de sexage doit pouvoir être largement déployée et en mesure d'être adoptée à l'échelle commerciale.
- **Élever les poussins « frères des poules » pour leur viande** dans des systèmes respectueux de leur bien-être (avec suffisamment d'espace et d'enrichissements) est également une solution. Toutefois, il est nécessaire de mieux comprendre les implications de l'élevage des frères des poules sur leur bien-être avant de considérer cette alternative comme préférable à l'élimination des poussins mâles.

* Nous continuons de soutenir les acteurs pionniers de l'ovo-sexage qui ont choisi une méthode réalisée jusqu'au JE14.

ALTERNATIVES À L'ÉLIMINATION DES POUSSINS MÂLES - Revue de la littérature scientifique

LE PROBLÈME

En raison des différences de sélection des volailles pour la production d'œufs ou de viande au cours des 100 dernières années, l'élevage des poussins mâles issus de la filière ponte n'est pas considéré comme économiquement viable. Les mâles issus de souches sélectionnées pour la ponte ne produisent pas d'œufs et ne rivalisent pas en termes de performance de croissance avec les souches de poulets de chair classiques ; ils sont donc considérés comme des sous-produits de la filière pondeuse. Ainsi, dans le monde, **6,5 milliards¹ (dont 330 millions en Europe) de poussins mâles d'un jour sont éliminés dans les couvoirs chaque année**. Le broyage ou l'asphyxie (gazage) sont les deux méthodes autorisées en Europe ; le recours à d'autres méthodes non respectueuses est possible dans les autres régions du monde lorsqu'il n'existe pas de réglementation spécifique.

L'élimination massive de poussins mâles d'un jour représente un enjeu éthique majeur dans l'industrie de l'œuf⁴. Les méthodes d'abattage suscitent également des préoccupations en termes de protection animale. Dans son avis de 2019 sur l'abattage des volailles, l'EFSA a listé une série de problématiques associées à chaque méthode d'abattage (dont le stress dû au froid, la douleur, la peur, la détresse respiratoire et l'étourdissement inefficace). Lors du broyage, les erreurs humaines et/ou les mauvais réglages de l'équipement peuvent avoir de graves conséquences négatives pour les animaux ; quant au gazage sous hautes concentrations de CO₂, la problématique réside dans le fait que la méthode elle-même soit aversive⁵.

De plus, la sélection des oiseaux pour la production spécialisée d'œufs ou de viande, à l'origine du désintérêt économique pour les poussins mâles nés en filière pondeuse, est l'une des principales causes des enjeux de bien-être animal que ce soit en filière pondeuse ou poulet de chair. La sélection de souches à croissance rapide avec un haut rendement en filet en filière poulets de chair a conduit à l'émergence d'importants problèmes de bien-être animal (taux élevés de problèmes aux pattes, de maladies cardiovasculaires, et de mortalité), tout en présentant peu d'indicateurs positifs de bien-être animal, contrairement aux souches à croissance plus lente^{6,7}. En filière pondeuse, la sélection pour une forte production d'œufs est associée à une mauvaise santé des os et une incidence élevée de fractures du bréchet^{8,9}, sources de douleur pour les oiseaux¹⁰. Ces facteurs réduisent la capacité de déplacement des oiseaux et entraînent des états émotionnels négatifs chez les poules¹¹. Les lésions osseuses, et en particulier les fractures du bréchet, ont été identifiées par l'Agence européenne de sécurité des aliments (EFSA)¹² comme un enjeu de bien-être animal majeur pour les poules pondeuses.

Les consommateurs informés de l'élimination des poussins mâles désapprouvent largement la pratique¹³⁻¹⁶. Des études menées en Suisse et aux Pays-Bas ont montré que les consommateurs étaient prêts à payer plus cher des produits qui éviteraient de recourir à l'élimination des poussins mâles^{14,15}.

Les préoccupations croissantes des consommateurs ont conduit à certaines évolutions réglementaires en Europe et à des efforts de recherche accrus pour trouver des alternatives viables. Au sein de l'UE, l'élimination des poussins mâles est interdite en Allemagne depuis janvier 2022 et en France depuis janvier 2023, tandis que l'Italie s'est engagée à rédiger un texte de loi pour mettre fin à la pratique d'ici 2026 (Tableau 1).

Une interdiction plus large au niveau de l'UE pourrait également être envisagée. Récemment, 11 Etats membres ont soutenu un appel en faveur d'une interdiction de l'élimination des poussins mâles à l'échelle européenne. La Commissaire européenne à la santé et à la sécurité alimentaire, Stella Kyriakides, a répondu positivement à cet appel et a accepté de réaliser une étude d'impact avant de faire une proposition législative (qui pourrait éventuellement être incluse dans la prochaine révision de la législation sur le bien-être)².

Il existe plusieurs alternatives à l'élimination des poussins mâles d'un jour, notamment l'élevage de souches duales (où les mâles sont élevés pour leur chair et les femelles pour la production d'œufs), l'élevage des poussins mâles issus de la filière ponte (les "frères des poules"), le sexage in-ovo (les œufs portants un embryon mâle sont identifiés et détruits avant l'éclosion) ou encore la modification du ratio mâles/femelles en faveur des femelles^{4,17}. Les avantages de chaque alternative sont étudiés ci-dessous.

Tableau 1. Législations sur l'élimination des poussins mâles dans divers pays en Europe

Allemagne	
Elimination des poussins mâles interdite depuis le 01/01/2022 · A partir du 01/01/2024 : le sexage-in-ovo doit être réalisé avant JE13* · Les mâles nés par suite d'erreurs de sexage doivent être élevés pendant 10 à 14 semaines minimum · Applicable aux poussins de souches pondeuses uniquement https://www.bundesrat.de/SharedDocs/drucksachen/2023/0201-0300/273-23.html	Dérogations : aucune
France	
Elimination des poussins mâles interdite depuis le 01/01/2023 · Le sexage-in-ovo doit être réalisé avant JE16 · Applicable aux poussins de souches pondeuses uniquement https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000045124750 https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000046704513	Dérogations : · Poussins destinés à l'élevage de reproducteurs · Poussins utilisés pour la recherche · Poussins utilisés pour l'alimentation animale · Poussins de souches blanches · Poussins mâles éclos par suite d'erreurs de sexage
Italie	
Proposition d'interdiction de l'abattage des poussins mâles d'ici le 31/12/2026 en attente (initialement prévue en août 2023) https://www.camera.it/leg18/410?idSeduta=0736&tipo=documenti_seduta_- Art. 18	Dérogations : pas de détails disponibles
Autriche	
La mise à mort "insensée" ("senseless") des poussins mâles est interdite depuis le 01/01/2022 https://ktn.lko.at/m%C3%A4nnliche-legek%C3%BCken-sinnvoll-verwenden+2400+3554268	Dérogations : · Poussins utilisés pour l'alimentation animale

LES SOLUTIONS

ÉLEVER LES POUSSINS MÂLES POUR LEUR CHAIR

L'élimination des poussins mâles d'un jour peut être entièrement évitée en les élevant pour la viande, deux stratégies différentes existent : la première consiste à utiliser des souches duales, les mâles pouvant être élevés pour la viande et les femelles pour la production d'œufs, tandis que la seconde consiste simplement à garder les "frères" des poules pondeuses sans modifier la génétique utilisée.

SOUCHES DUALES

Dans l'élevage de souches duales, les femelles sont élevées pour la production d'œufs et les mâles le sont pour la production de viande. En raison de l'équilibre de ces souches, les animaux ont des niveaux de production d'œufs et de viande plus modérés, permettant de lever de nombreux problèmes de bien-être animal actuellement associés à la production d'œufs et de viande de poulet par des souches spécialisées. Les souches duales peuvent provenir de souches traditionnelles (non sélectionnées pour les œufs ou la viande) ou de souches issues de croisements de lignées de pondeuses et de poulets de chair, comme la Lohmann Dual¹⁸.

Il y a peu de littérature scientifique sur les résultats de l'élevage de souches duales en termes de bien-être animal ou d'un point de vue économique. Le peu d'études existantes se sont principalement concentrées sur la souche Lohmann Dual, et quelques études se sont penchées sur d'autres souches commerciales ou traditionnelles. Cela rend difficile les généralisations sur l'aptitude de ces autres souches pour une production à grande échelle.

En termes de bien-être animal, la sélection des poules sur la production d'œufs entraîne un risque élevé de fractures du bréchet^{19,20}. Les poules issues de souches duales présentent une plus faible incidence de déformation du bréchet (~10%) lorsqu'elles sont élevées en bâtiments mobiles¹⁸. Pour certaines souches traditionnelles, la prévalence des fractures du bréchet serait très faible et n'existerait pas chez les mâles, du moins au sein des systèmes en cages²¹. Le picage des plumes représente un problème de bien-être animal majeur pour les poules pondeuses, à l'origine de blessures et douleurs, et est identifié comme un risque de stress¹². Les poules Lohmann Dual présentent un comportement de picage moins préjudiciable que les souches conventionnelles^{22,23}, indiquant qu'elles peuvent être moins stressées par les pratiques d'élevage²⁴.

Il a été démontré que les coquelets issus de souches duales avaient une meilleure capacité de déplacement, santé des pattes et condition de plumage comparé aux poulets à croissance rapide²⁵, ainsi que des indicateurs de bien-être animal équivalents à ceux de souches à croissance plus lente²⁶. Bien que les mâles de souches Lohmann Dual puissent exprimer des réactions de peur plus importantes que celles des mâles de souches conventionnelles en période précédant la ponte, l'inverse a été constaté à un âge plus avancé²⁴.

Les souches duales ont des besoins protéiques plus faibles, ce qui signifie que la formulation de leur alimentation peut être moins coûteuse, par exemple en remplaçant le tourteau de soja par d'autres protéines cultivées plus localement. Au-delà des avantages économiques, cette

caractéristique représente des avantages en termes de réduction de l'impact environnemental et d'opportunités marketing^{28,29}. Une récente expérimentation allemande a montré que des fèves cultivées localement constituaient une alternative appropriée au tourteau de soja pour l'alimentation de trois souches duales issues de croisements³⁰.

L'une des préoccupations liées à l'utilisation de souches duales est que, pour produire la quantité d'œufs et de viande actuellement consommée, il faudrait élever un plus grand nombre d'animaux. Toutefois, les consommateurs s'intéressent de plus en plus aux protéines alternatives d'origine végétale et la tendance générale est plutôt à la réduction de la consommation d'aliments d'origine animale (AOA). Une transition vers des souches duales, associée à une réduction de notre dépendance aux AOA, permettrait d'améliorer significativement le bien-être des poules et des poulets tout en soutenant la transition nécessaire vers un système alimentaire plus durable.

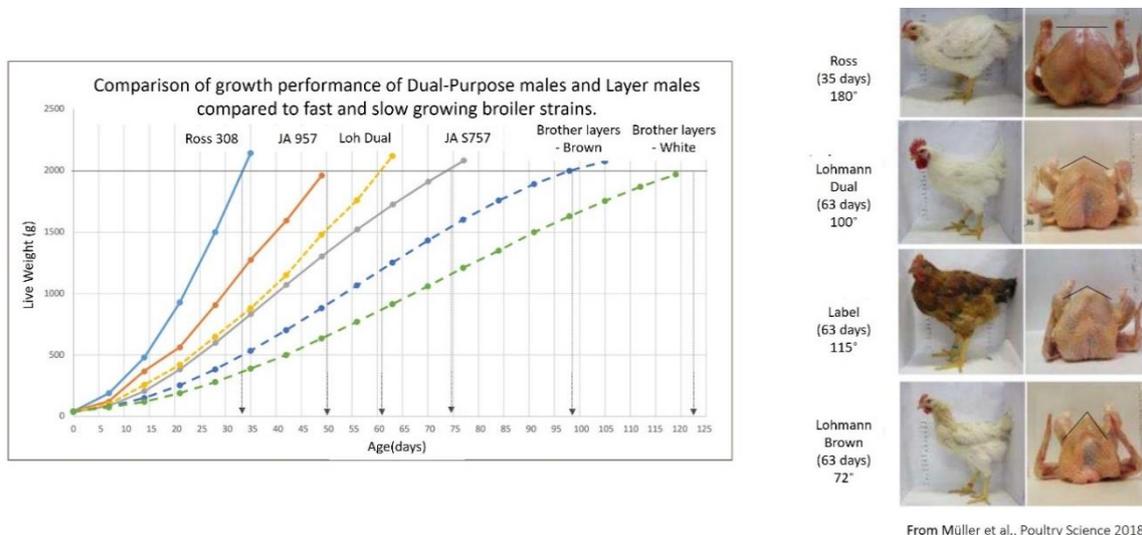


Figure 1. Performances de croissance et apparences des carcasses de souches duales et de frères des poules comparées aux souches à croissance rapide et plus lente. Extrait d'une présentation d'un webinar diffusé par l'ITAVI sur les alternatives à l'élimination des poussins mâles, novembre 2022³⁶, et adapté de Müller et al. (2018)³³.

Considérées comme moins productives que les souches conventionnelles, les coûts de production associés aux souches duales sont plus élevés. Par exemple, pour la souche Lohmann Dual, une augmentation de 50% par rapport aux coûts de production associés aux souches conventionnelles serait à prévoir¹⁷. Les souches duales ont des niveaux de production d'œufs et de viande plus modérés comparés à ceux des poules pondeuses et poulets de chair conventionnels. Les poules Lohmann Dual produiraient 282 œufs à l'âge de 72 semaines, avec un poids inférieur à celui des souches pondeuses conventionnelles (Lohmann Brown - 321 œufs à 72 semaines) ; une perte de rentabilité de 6€/poule en est ainsi estimée³¹. Les souches duales commerciales ont de meilleurs résultats en termes de croissance comparées aux souches traditionnelles^{32,33}, mais ils restent inférieurs à ceux des souches à croissance rapide³³. Cependant, lorsqu'elles sont élevées pour leur viande, les souches duales peuvent avoir une croissance comparable à celle de certaines souches à croissance plus lente (Figure 1), et, associées à une meilleure production d'œufs, peuvent représenter une alternative

commerciallement viable³³. Des recherches allemandes menées en 2017 ont montré que des oiseaux de souches duales élevés en bâtiment étaient associés à une augmentation du coût de production de 0,02€/œuf³⁴. L'initiative Bruderhahn (Brother Hen) en Allemagne propose une augmentation de 0,04€/œuf vendu afin de couvrir les coûts de production et de marketing additionnels liés à l'élevage biologique des frères des poules³⁵.

Sur le sujet de la perception des consommateurs, des enquêtes conduites aux Pays-Bas et en Allemagne ont montré que, respectivement, 23-29% et 27% des personnes interrogées préfèrent l'élevage de souches duales comme alternative à l'élimination des poussins mâles^{15,37}. Toutefois, une autre étude réalisée en Allemagne a souligné l'importance du marketing pour la commercialisation de produits issus de souches duales, les consommateurs étant généralement peu informés de l'alternative. Lorsque ces derniers reçoivent plus d'informations, la plupart d'entre eux considèrent cette alternative comme positive. De même, la volonté des consommateurs suisses à payer plus cher pour ces produits est liée à leur niveau de connaissance sur l'élevage de volailles¹⁴.

Les souches duales ayant à la fois le potentiel de résoudre les principaux enjeux de bien-être animal associés aux filières œufs et poulets de chair, et de mettre un terme à l'élimination des poussins mâles, elles représentent la solution préférée et la meilleure pratique, susceptible d'être la mieux adaptée à l'avenir.

FRÈRES DES POULES

Bien que l'élevage de poussins mâles issus de souches pondeuses pour la production de viande soit généralement considéré comme n'étant pas économiquement viable et reste une production de niche, la tendance à les élever s'est accrue ces dernières années en raison des pressions sociétales et législatives visant à mettre un terme à l'élimination des poussins mâles dans certains pays. En Allemagne par exemple, on estime qu'en 2018, environ 270 000 poussins mâles ont été élevés en filière biologique³⁸, et que depuis l'entrée en vigueur de la nouvelle législation au début de l'année 2022, 74% des poussins mâles éclos au cours des cinq mois suivant l'interdiction auraient été élevés pour la viande³⁹.

En termes de bien-être animal, peu de recherches ont été publiées sur les mâles issus de souches pondeuses. Les taux de mortalité seraient de 1 à 2% par lot, et les pododermatites ne semblent pas être un enjeu³⁸. Quelques études rapportent une augmentation de l'agressivité avec l'âge, et, les oiseaux étant élevés plus longtemps, il est possible qu'ils aient besoin d'être vaccinés une nouvelle fois, ce qui entraîne des manipulations supplémentaires³⁸. Lorsque les oiseaux atteignent leur maturité sexuelle à 13 semaines, le risque d'agressions et de blessures augmente. En Allemagne, où l'élevage des frères des poules est devenu une pratique plus courante depuis l'interdiction réglementaire d'éliminer les poussins mâles, des constats tels que le manque de bâtiments adaptés à l'élevage de ces animaux ont soulevé des enjeux supplémentaires sur le bien-être animal (dont les longues durées de transport pour rejoindre les sites d'élevage et d'abattage)⁴⁰.

Une étude s'intéressant au potentiel des frères des poules pour la production de coquelets (jeunes poulets abattus à un poids < 750 g) a montré que ces animaux mettaient plus de temps à atteindre le poids d'abattage prévu de 650 g comparés aux poulets de chair conventionnels

à croissance rapide (souches conventionnelles : 19 jours ; souches pondeuses : 47-49 jours), que leur indice de consommation était plus élevé (souches conventionnelles : 1 :1,2 ; souches pondeuses : 1 :2,5) et qu'ils présentaient une plus faible proportion de morceaux de valeur (filets et cuisses, souches conventionnelles : 65% ; souches pondeuses : 62%)⁴¹. Les résultats pour l'élevage de frères des poules à un poids cible plus élevé (1,3 - 1,5kg) montrent des indices de conversion alimentaire encore plus élevés (de 4 à 10³⁸), se traduisant par des coûts de production cinq fois supérieurs à ceux des souches à croissance rapide⁴².

L'avantage de cette alternative pour l'industrie est que la production d'œufs ne diminue pas. Toutefois, un marché est nécessaire pour la viande issue des mâles de souches pondeuses. En Allemagne, il semblerait que la majorité de la filière biologique vise à s'orienter vers l'élevage de souches duales^{38,39}, tandis que l'ovo-sexage reste l'alternative préférable pour les filières conventionnelles³⁹.

Il est important de noter que, en termes de bien-être animal, l'élevage des frères des poules ne réduit pas la pression de production exercée sur les poules pondeuses et sur les poulets de chair à croissance rapide. Le marché de la viande de mâles de souches pondeuses doit se développer pour que cette alternative devienne intéressante. Les potentiels enjeux liés à l'augmentation de l'agressivité des oiseaux ainsi qu'au manque de bâtiments d'élevage adaptés doivent être étudiés. A l'inverse, les mâles de souches pondeuses ne souffrent pas des problèmes causés par une croissance trop rapide et ont ainsi le potentiel de démontrer de bons résultats en termes de bien-être animal, pourvu qu'ils soient élevés dans des systèmes adaptés à leurs besoins spécifiques. Des recherches additionnelles sont nécessaires pour identifier les besoins de ces animaux et assurer leur bien-être dans des conditions commerciales.

DÉTERMINATION DU SEXE DANS L'OEUF

Un des moyens pour éviter l'élimination des poussins mâles d'un jour est d'identifier le sexe des poussins dans l'œuf, et de détruire les œufs mâles avant l'éclosion.

Si cette alternative permet de résoudre les enjeux de bien-être animal liés à la mise à mort des poussins mâles, elle ne répond pas aux préoccupations plus générales sur la sélection des animaux axée sur la production dans les filières œufs et poulets de chair. De plus, elle ne constitue une amélioration par rapport aux pratiques actuelles que si elle est réalisée dans la période où le poussin n'est pas encore sensible et capable de ressentir la douleur, et si elle ne présente pas de risque de bien-être animal pour les poussins qui éclore ensuite. La méthode doit également être très précise pour garantir que tous les œufs mâles soient identifiés et détruits, afin que l'abattage après éclosion ne soit plus nécessaire. Le sexage après éclosion ayant un taux de précision de 98,5%, toute technique de sexage in-ovo devrait viser un taux de précision similaire voire supérieur.

La perception de la douleur chez l'embryon de poule est impossible avant le 7^{ème} jour embryonnaire (JE7), les neurones afférents qui transmettent les informations sensorielles n'étant pas connectés à la corne dorsale avant ce stade⁴³. Une revue des premières recherches sur le développement neuronal chez l'embryon de poule, réalisée par Mellor en 2007⁴⁴, indiquait qu'il n'y avait pas d'activité EEG détectable avant le 13^{ème} jour. Les recherches

récentes sur la perception de la douleur de l'embryon sont peu nombreuses. C'est la raison pour laquelle le Ministère fédéral de l'Alimentation et de l'Agriculture allemand a commissionné une étude sur le sujet⁴⁵. D'après les résultats, la perception de la douleur n'est pas possible jusqu'au JE12 inclus. Toutefois, ces résultats doivent être considérés avec précaution, les études expérimentales sur lesquelles se base le rapport n'ayant pas encore été examinées par des pairs. De plus, la généralisation des résultats doit encore être étudiée puisque l'étude n'a porté que sur une souche (Lohman Selected Leghor), et sur un nombre relativement faible d'œufs⁴⁶⁻⁴⁸. Par conséquent, jusqu'à ce que ces études soient publiées et que d'autres preuves concordantes soient démontrées pour d'autres souches, l'application du principe de précaution suggérerait que le sexage et la destruction des œufs avant JE7 garantirait l'absence de souffrance. Toutefois, les méthodes de sexage in-ovo actuellement disponibles sur le marché sont réalisées à partir de JE9 (Tableau 2).

D'un point de vue économique, il est intéressant de sexer les œufs le plus tôt possible. Les coûts d'incubation peuvent être réduits par un sexage plus précoce et, idéalement, le sexage avant l'incubation permettrait de vendre les œufs comme œufs coquille pour la consommation humaine. En outre, pour qu'une méthode soit commercialement viable, elle doit être rapide, précise et exacte, applicable à différentes souches (et idéalement à d'autres espèces), et à un coût acceptable pour les couvoirs et les consommateurs¹⁷.

Les enquêtes menées auprès des consommateurs dans différents pays de l'UE montrent que le sexage in-ovo peut être bien accepté : plus de la moitié des répondants néerlandais ont indiqué qu'il s'agissait de leur alternative préférée à l'élimination des poussins mâles¹⁵, tandis que divers facteurs tels que la méthode elle-même et le jour de détermination ont influencé l'acceptation de cette alternative par les répondants allemands^{13,49}. En revanche, aucune de ces deux études n'a présenté les préoccupations plus larges sur le bien-être animal résultant de la spécialisation des filières œufs et poulets de chair ; il n'est donc pas possible de savoir si ces connaissances modifieraient les préférences des personnes interrogées.

Différentes méthodes de sexage in-ovo ont été étudiées et sont présentées ci-dessous. Les méthodes en cours de développement ou déjà disponibles commercialement sont résumées dans le tableau 2.

MÉTHODES OPTIQUES

Le sexe de l'embryon en développement peut être déterminé à l'aide de techniques optiques et d'imagerie. La spectroscopie est l'étude de l'interaction entre les ondes électromagnétiques (lumière et autres radiations) et la matière. L'examen de la manière dont ces ondes électromagnétiques sont modifiées par cette interaction fournit des informations précieuses sur la composition, la structure et les propriétés physiques des substances. Dans le cas des méthodes de sexage in-ovo, la spectroscopie est utilisée pour étudier si les différences entre les sexes peuvent être identifiées par des différences dans la façon dont les ondes électromagnétiques changent lorsqu'elles interagissent avec l'embryon en développement. Dans certaines méthodes, cela peut se faire sans endommager l'œuf, alors que dans d'autres, la coquille doit être percée.

- **Imagerie hyperspectrale** : L'imagerie hyperspectrale est une technologie qui mesure et analyse les signaux du spectre électromagnétique⁵⁰. Elle fournit des informations sur la couleur de la lumière, mais aussi des informations spatiales, sur la profondeur à laquelle la lumière est absorbée. Elle peut ainsi fournir des informations extrêmement détaillées sur un objet. Lors du sexage in-ovo, l'œuf est éclairé par une source lumineuse et une caméra hyperspectrale mesure le signal spectral produit. Cette méthode est non invasive car elle ne nécessite pas de percer la coquille. L'imagerie hyperspectrale est utilisée pour détecter les différences de couleur des plumes entre les sexes dans les œufs issus de souches brunes. Elle est réalisée à JE14 avec une précision de 97-99%^{51,52}. L'industrie s'efforce actuellement d'utiliser l'imagerie hyperspectrale à un stade beaucoup plus précoce pour d'autres caractéristiques susceptibles de différer en fonction du sexe, mais au moment de la rédaction de ce document, aucun article scientifique n'a été publié à ce sujet.
- **Spectroscopie ponctuelle** : La spectroscopie ponctuelle fonctionne de la même manière que l'imagerie hyperspectrale. Il s'agit d'une méthode non invasive qui fournit un signal moins détaillé mais plus clair que l'imagerie hyperspectrale, et qui peut donc être potentiellement plus précise. La précision de la spectroscopie ponctuelle dans le visible et l'infrarouge proche (vis-NIR) pour détecter les différences de couleur des plumes dans les œufs bruns serait supérieure à celle de l'imagerie hyperspectrale à JE13 et à moindre coût, et elle pourrait fonctionner à une cadence plus élevée sans compromettre la précision⁵².
- **Spectroscopie Raman et de fluorescence** : La spectroscopie Raman est une technique spectroscopique dans laquelle la diffusion de la lumière émise par un objet donne une mesure de l'énergie vibratoire des composants de cet objet. Chaque molécule produit un spectre Raman unique. Il a été constaté que les cellules d'embryons de poussins mâles et femelles différaient dans leur composition biochimique sanguine, les mâles ayant une teneur en hémoglobine plus élevée. Ces différences peuvent être détectées par la spectroscopie Raman à JE3.5^{17,53,54}. En combinant la spectroscopie Raman et la spectroscopie de fluorescence (une technique où l'absorption et l'émission de lumière d'une longueur d'onde spécifique peuvent fournir des informations sur un objet), le taux de précision est passé de 90%⁵⁴ à 93%⁵⁵. Plus récemment, une méthode de spectroscopie de fluorescence a permis d'atteindre un taux de précision de 96% entre JE3,5 et JE5⁵⁶. La méthode est semi-invasive car elle nécessite de percer l'enveloppe externe, mais la membrane interne peut être laissée intacte⁵³.
- **Imagerie par résonance magnétique** : L'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet de détecter certaines caractéristiques de l'ovule de manière non invasive, mais ces caractéristiques ne sont pas corrélées avec le sexe de l'embryon⁵⁷. Cependant, l'industrie a réussi à déterminer le sexe in-ovo en utilisant la technologie de l'IRM (Tableau 2), mais les informations détaillées sur cette méthode ne sont pas encore disponibles.

MÉTHODES NON OPTIQUES

Diverses approches non optiques ont été étudiées sur leur capacité à déterminer le sexe des embryons de poussins in-ovo, qu'il s'agisse de différences morphologiques, dans les concentrations d'hormones ou dans l'ADN détecté dans les cellules du sang ou des tissus.

- **Analyse de biomarqueurs** : L'analyse des biomarqueurs consiste à prélever un échantillon de sang, de tissu ou de liquide à l'intérieur de l'œuf afin de rechercher des facteurs qui peuvent être mesurés et prédire avec précision le sexe de l'embryon en développement. L'analyse d'un échantillon de liquide allantoïdien à l'intérieur de l'œuf permet de distinguer les mâles des femelles sur la base des concentrations en sulfate d'estrone qui sont plus élevées chez les femelles au 9^{ème} jour⁵⁸ avec une grande précision (supérieure à 98%). D'autres approches sont basées sur la détection de gènes spécifiques du chromosome sexuel W/Z, en prélevant de petites quantités de sang⁵⁹. Le prélèvement d'échantillons à l'intérieur de l'œuf est une méthode invasive qui peut affecter le taux d'éclosion des œufs.
- **Edition génétique** : Grâce aux progrès récents de la technologie d'édition des gènes, les scientifiques sont en mesure de supprimer, d'ajouter ou de modifier des séquences d'ADN de manière très ciblée. Cette méthode CRISPR-Cas9 peut être utilisée pour déterminer le sexe des embryons de poussins en ajoutant, par exemple, une protéine fluorescente à la séquence d'ADN des chromosomes mâles, qui peut ensuite être détectée avant l'éclosion⁶⁰. Une autre méthode consiste à introduire une modification du chromosome Z (le chromosome mâle chez les oiseaux) qui, lorsqu'il est activé par une lumière bleue diffusée à travers la coquille de l'œuf pendant l'incubation, entraîne la mort de l'embryon mâle homozygote, mais pas celle de l'embryon femelle hétérozygote⁶¹. Il pourrait s'agir d'une méthode commercialement viable, à condition que des recherches complémentaires démontrent qu'elle n'a pas d'incidence négative sur le bien-être des animaux.

D'une manière générale, CIWF considère que l'édition génétique des animaux d'élevage ne devrait pas être autorisée, sauf dans les circonstances les plus exceptionnelles, lorsqu'une étude d'impact montre que :

- Il n'y aura pas d'impact négatif sur la santé et le bien-être des animaux
 - Il n'existe pas de méthode moins intrusive pour atteindre l'objectif visé
 - L'objectif recherché n'implique pas d'encourager les systèmes d'élevage intensif, ces derniers étant à l'origine de nombreux impacts négatifs sur la santé et le bien-être des animaux.
- **Différences morphologiques** : Les résultats sont contradictoires quant à la possibilité d'utiliser les caractéristiques morphologiques de l'œuf pour prédire le sexe de l'embryon (tels que la longueur, le diamètre, la forme, la largeur et le volume de l'œuf)^{62,63}.

Certaines de ces approches ont été mises en place sur le marché (Tableau 2).

AUTRES APPROCHES

Des essais de modification du ratio du sexe des embryons en développement ont également été conduits. Bien qu'il y ait peu d'information disponible dans la littérature scientifique à ce sujet, une méthode développée par un acteur privé affirme qu'en exposant les embryons en développement à des vibrations sonores et en contrôlant l'humidité de l'environnement, elle est capable de modifier l'expression du sexe des embryons génétiquement mâles. Selon cette méthode, les embryons génétiquement mâles développent des caractéristiques sexuelles femelles - ovaires au lieu de testicules - et pondent des œufs au même rythme que les poules génétiquement femelles⁶⁴. Ce mécanisme serait dû à des altérations du gène DMRT1⁶⁵. Il n'existe pas de preuves indépendantes à l'appui de cette affirmation et, bien que des mutations sur le gène DMRT1 puissent entraîner le développement d'ovaires au lieu de testicules chez des animaux génétiquement mâles, ces animaux n'ont pas ovulé ni pondu d'œufs à la maturité sexuelle⁶⁶.

CONCLUSIONS

L'élimination des poussins mâles d'un jour n'est plus une pratique acceptable pour les consommateurs, que ce soit pour des raisons éthiques ou de bien-être animal. D'un point de vue bien-être animal, la meilleure alternative consiste à élever des souches duales pour lesquelles les poussins mâles sont élevés pour la viande. Lorsque cette alternative n'est pas possible, le sexage in-ovo et la destruction des œufs contenant des embryons mâles avant qu'ils ne deviennent sensibles est une alternative acceptable, pourvu que certaines conditions soient remplies, notamment que les œufs mâles soient détruits avant que l'embryon ne soit capable de ressentir de la douleur (la perception de la douleur n'est physiquement pas possible avant JE7), que la méthode soit précise, non invasive et qu'elle n'ait pas d'incidence sur le bien-être des poussins qui éclore. L'élevage des frères des poules est une autre solution possible, mais des recherches supplémentaires sont nécessaires pour garantir le bien-être de ces oiseaux.

RECOMMANDATIONS

CIWF est déterminé à voir l'arrêt de l'élimination des poussins mâles d'un jour et demande :

- **Alternative à favoriser** : utilisation de **souches duales** avec de bons indicateurs de bien-être animal et élevage des poussins mâles pour leur viande.
- Lorsque l'élevage de souches duales n'est pas possible, l'**ovo-sexage** et la destruction des œufs contenant des embryons mâles avant que ceux-ci ne développent leur sensibilité est une alternative acceptable.
 - ✓ D'après les dernières avancées scientifiques, **le sexage doit être réalisé avant que l'embryon ne puisse ressentir de la douleur**. Actuellement, l'état de la recherche indique que la perception de la douleur n'est physiquement pas possible avant le 7^{ème} jour embryonnaire (JE7). Nous recommandons donc aux acteurs souhaitant s'orienter vers l'ovo-sexage d'adopter une méthode réalisable **avant JE7** dès disponibilité sur le marché. En attendant, il est fortement recommandé de recourir aux méthodes les plus précoces possibles (actuellement JE9)*.
 - ✓ Les méthodes les moins invasives sont préférables. Il est important que la méthode de sexage n'entraîne aucun dommage aux embryons qui survivront au-delà de l'âge de développement de la sensibilité, notamment qu'elle ne cause ni la mort ni d'éventuelles atteintes au bien-être des poussins qui éclosent.
 - ✓ La méthode de sexage doit être précise. Un taux de précision au moins égal à celui du sexage post-éclosion (soit 98,5%) est recommandé.
 - ✓ Tous les mâles nés à l'issue d'erreurs de sexage doivent être élevés dans des systèmes respectueux de leur bien-être (respectant a minima les exigences de l'[European Chicken Commitment](#))
 - ✓ La méthode de sexage doit pouvoir être largement répandue et en mesure d'être adoptée à l'échelle industrielle.
- **Élever les poussins « frères des poules » pour leur viande** dans des systèmes respectueux du bien-être animal (avec suffisamment d'espace et des enrichissements) est également une solution. Toutefois, il est nécessaire de mieux comprendre les implications de l'élevage des frères des poules sur leur bien-être avant de considérer cette alternative comme préférable à l'élimination des poussins mâles.

** Nous continuons de soutenir les acteurs pionniers de l'ovo-sexage qui ont choisi une méthode réalisée jusqu'au JE14.*

Tableau 2. Aperçu des technologies de sexage in-ovo disponibles sur le marché et en cours de développement. Les caractéristiques indiquées en vert répondent aux recommandations de CIWF

Technologie	Méthode	Jour de réalisation	Perforation de la coquille	Précision déclarée	Souche	Cadence	Etat
OPTIQUES							
Spectroscopie Raman, AAT	Détermination du sexe sur la base des spectres d'absorption. Différences dans la teneur en hémoglobine des vaisseaux sanguins.	Jour 5	Partiellement - coquille perforée via un laser de CO2 gazeux, mais membrane interne intacte		Toutes		En développement
Hypereye	Imagerie hyperspectrale - différences entre les sexes sur le disque germinal	Pré-incubation	Non (pas de vérification indépendante)	99%	Toutes	Prévision : 50000 œufs/heure	En développement
CHEGGY, AAT	Imagerie hyperspectrale	Jour 13	Non-invasive - pas d'impact sur le taux d'éclosion	>96%	Souches brunes uniquement	Actuelle : 20000 œufs/heure	Disponible sur le marché
Genus Focus, Orbem	Imagerie par résonance magnétique (IRM) accélérée grâce à la technologie de l'IA	Jour 12	Non-invasive - pas d'impact sur le taux d'éclosion	> 98%	Toutes	Actuelle : jusqu'à 24000 œufs/heure	Disponible sur le marché
NON-OPTIQUES							
Ella, In Ovo	Analyse de biomarqueurs	Jour 9	Oui - échantillon prélevé à l'intérieur de l'œuf à l'aide d'une aiguille		Toutes		Disponible sur le marché
Plantegg	Détection de gènes spécifiques du chromosome W/Z par PCR	Jour 9	Partiellement - nécessite un échantillon de liquide allantoïque	99,5%	Toutes	Actuelle : 3000 œufs/heure	Disponible sur le marché
Seleggt	Bio-marqueur - les niveaux de sulfate d'estrone différent entre les poussins mâles et femelles	Jour 9	Partiellement - nécessite un échantillon de liquide allantoïque	98,5%	Toutes	Actuelle : 3600 œufs/heure	Disponible sur le marché
EDITION GÉNÉTIQUE							
eggXYt	CRISPR - biomarqueur fluorescent placé sur le chromosome mâle	Pré-incubation	Non-invasive	100%	Toutes		En développement
Huminn	Chromosome Z létal activé par la lumière bleue	Pré-incubation	Non-invasive	100%	Toutes		En développement

SOURCES

1. What the poultry sector is doing to address male chick culling - Farmers Weekly. <https://www.fwi.co.uk/livestock/poultry/layers/what-the-poultry-sector-is-doing-to-address-male-chick-culling>.
2. European Parliament Research Service (2022) *Male chick culling*. <http://www.europarl.europa.eu/thinktank>
3. DEFRA. UK chick and poultry placings - monthly dataset.
4. Gautron, J., Réhault-Godbert, S., van de Braak, T. G. H. & Dunn, I. C. (2021) Review: What are the challenges facing the table egg industry in the next decades and what can be done to address them? *Animal* 15, 100282
5. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) (2019) Killing for purposes other than slaughter: poultry *EFSA Journal* 17, 11.
6. Hartcher, K. M. & Lum, H. K. (2019) Genetic selection of broilers and welfare consequences: a review. <https://doi.org/10.1080/00439339.2019.1680025> 76, 154-167.
7. Rayner, A. C., Newberry, R. C., Vas, J. & Mullan, S. (2020) Slow-growing broilers are healthier and express more behavioural indicators of positive welfare. *Scientific Reports* 2020 10:1 10, 1-14.
8. Fernyhough, M., Nicol, C. J., van de Braak, T., Toscano, M. J. & Tønnessen, M. (2020) The Ethics of Laying Hen Genetics. *J Agric Environ Ethics* 33, 15-36.
9. Toscano, M. (2018) Skeletal problems in contemporary commercial laying hens. *Advances in Poultry Welfare* 151-173 doi:10.1016/B978-0-08-100915-4.00008-7.
10. Nasr, M. A. F., Nicol, C. J. & Murrell, J. C. (2012) Do Laying Hens with Keel Bone Fractures Experience Pain? *PLoS One* 7, e42420.
11. Riber, A. B., Casey-Trott, T. M. & Herskin, M. S. (2018) The influence of keel bone damage on welfare of laying hens. *Front Vet Sci* 5, 6.
12. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) (2023) Welfare of laying hens on farm. *EFSA Journal* 21, e07789.
13. Reithmayer, C., Danne, M. & Mußhoff, O. (2021) Societal attitudes towards in ovo gender determination as an alternative to chick culling. *Agribusiness* 37, 306-323.
14. Gangnat, I. D. M. *et al.* (2018) Swiss consumers' willingness to pay and attitudes regarding dual-purpose poultry and eggs. *Poult Sci* 97, 1089-1098.
15. de Haas, E. N., Oliemans, E. & van Gerwen, M. A. A. M. (2021) The Need for an Alternative to Culling Day-Old Male Layer Chicks: A Survey on Awareness, Alternatives, and the Willingness to Pay for Alternatives in a Selected Population of Dutch Citizens. *Front Vet Sci* 8, 381.
16. Busse, M., Kernecker, M. L., Zscheischler, J., Zoll, F. & Siebert, R. (2019) Ethical Concerns in Poultry Production: A German Consumer Survey About Dual Purpose Chickens. *J Agric Environ Ethics* 32, 905-925.
17. Krautwald-Junghanns, M. E. *et al.* (2018) Current approaches to avoid the culling of day-old male chicks in the layer industry, with special reference to spectroscopic methods. *Poult Sci* 97, 749-757.
18. Lambertz, C., Wuthijaree, K. & Gauly, M. (2018) Performance, behavior, and health of male broilers and laying hens of 2 dual-purpose chicken genotypes. *Poult Sci* 97, 3564-3576.
19. Eusemann, B. K. *et al.* (2018) Radiographic examination of keel bone damage in living laying hens of different strains kept in two housing systems. *PLoS One* 13, e0194974.
20. Eusemann, B. K. *et al.* (2020) The Role of Egg Production in the Etiology of Keel Bone Damage in Laying Hens. *Front Vet Sci* 7, 81.
21. Kittelsen, K. E. *et al.* (2020) A Descriptive Study of Keel Bone Fractures in Hens and Roosters from Four Non-Commercial Laying Breeds Housed in Furnished Cages. *Animals* 10, 2192.
22. Giersberg, M. F., Spindler, B., Rodenburg, B. & Kemper, N. (2019) The Dual-Purpose Hen as a Chance: Avoiding Injurious Pecking in Modern Laying Hen Husbandry. *Animals* 10, 16.
23. Rieke, L., Spindler, B., Zylka, I., Kemper, N. & Giersberg, M. F. (2021) Pecking Behavior in Conventional Layer Hybrids and Dual-Purpose Hens Throughout the Laying Period. *Front Vet Sci* 8, 386.
24. Giersberg, M. F., Spindler, B. & Kemper, N. (2020) Are dual-purpose hens less fearful than conventional layer hybrids? *Veterinary Record* 187, e35-e35.
25. Malchow, J. & Schrader, L. (2021) Effects of an Elevated Platform on Welfare Aspects in Male Conventional Broilers and Dual-Purpose Chickens. *Front Vet Sci* 8, 497.
26. Baldinger, L. & Bussemas, R. (2021) Dual-purpose production of eggs and meat – Part 1: cockerels of crosses between layer and meat breeds achieve moderate growth rates while showing unimpaired animal welfare. *Organic Agriculture* 11, 489-498.
27. Meuser, V., Weinhold, L., Hillemacher, S. & Tiemann, I. (2021) Welfare-Related Behaviors in Chickens: Characterization of Fear and Exploration in Local and Commercial Chicken Strains. *Animals* 11, 679.
28. Nolte, T. *et al.* (2020) Growth Performance of Local Chicken Breeds, a High-Performance Genotype and Their Crosses Fed with Regional Faba Beans to Replace Soy. *Animals* 10, 702.
29. Urban, J., Röhe, I. & Zentek, J. (2018) Effect of protein restriction on performance, nutrient digestibility and whole body composition of male Lohmann Dual chickens. *European Poultry Science* 82.

30. Escobedo Del Bosque, C. I., Grahl, S., Nolte, T. & Mörlein, D. (2022) Meat Quality Parameters, Sensory Properties and Consumer Acceptance of Chicken Meat from Dual-Purpose Crossbreeds Fed with Regional Faba Beans. *Foods* 11, 1074.
31. LOHMANN DUAL - Layer and Broiler at the very same time - Lohmann Breeders. <https://lohmann-breeders.com/lohmann-dual-layer-and-broiler-at-the-very-same-time/>.
32. Tiemann, I., Hillemacher, S. & Wittmann, M. (2020) Are Dual-Purpose Chickens Twice as Good? Measuring Performance and Animal Welfare throughout the Fattening Period. *Animals*, 10, 1980.
33. Mueller, S. et al. (2018) Carcass and meat quality of dual-purpose chickens (Lohmann Dual, Belgian Malines, Schweizerhuhn) in comparison to broiler and layer chicken types. *Poult Sci* 97, 3325-3336.
34. Diekmann, J., Hermann, D. & Mußhoff, O. (2017) Wie hoch ist der Preis auf Kükentötungen zu verzichten? Bewertung des Zweinutzungshuhn- und Bruderhahnkonzepts als wirtschaftliche Alternative zu Mast- und Legehybriden. *Berichte über Landwirtschaft - Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft* doi:10.12767/BUEL.V95I1.147.
35. Bruderhahn Initiative (2022) Bruderhahn-Aufzucht in der BID - Informationen für Erzeuger:innen. https://brudertier.bio/sites/default/files/2022-03/PB_BID_Bruderhahn_Infoblatt_1.1.pdf.
36. ITAVI : Alternatives à l'élimination des poussins Mâles de la filière ponte | diaporama. <https://www.itavi.asso.fr/publications/alternatives-a-l-elimination-des-poussins-males-de-la-filiere-ponte-diaporama>.
37. Reithmayer, C. & Mußhoff, O. (2019) Consumer preferences for alternatives to chick culling in Germany. *Poult Sci* 98, 4539-4548.
38. Giersberg, M. F. & Kemper, N. (2018) Rearing Male Layer Chickens: A German Perspective. *Agriculture*, 8, 176
39. German Bundesinformationszentrum Landwirtschaft (Federal Information center for agriculture) (2022) Was ist ein Bruderhahn? <https://www.landwirtschaft.de/landwirtschaft-verstehen/haetten-sies-gewusst/tierhaltung/was-ist-ein-bruderhahn/>.
40. Animal Society (2022) *The Way Out: A report on ending chick killing in the European Union*.
41. Koenig, M., Hahn, G., Damme, K. & Schmutz, M. (2010) Utilization of laying-type cockerels as coquelets: growth performance and carcass quality. *Fleischwirtschaft* 90, 92-94.
42. Kaufmann, F. & Andersson, R. (2012) Eignung männlicher Legehybriden zur Mast (Suitability of egg-type cockerels for fattening purposes). Report
43. Bjørnstad, S., Austdal, L. P. E., Roald, B., Glover, J. C. & Paulsen, R. E. (2015) Cracking the Egg: Potential of the Developing Chicken as a Model System for Nonclinical Safety Studies of Pharmaceuticals. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 355, 386-396.
44. Mellor, D. J. & Diesch, T. J. (2007) Birth and hatching: Key events in the onset of awareness in the lamb and chick. <http://dx.doi.org/10.1080/00480169.2007.36742> 55, 51-60.
45. MRI (2023). *Schmerzempfinden bei Hühnerembryonen*. <https://www.bmel.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/DE/2023/036-schmerzempfinden-huehnerembryonen.html>.
46. Weiss, L. et al. (preprint) Nociception in chicken embryos, Part I: Analysis of cardiovascular responses to a mechanical noxious stimulus. *bioRxiv* 2023.04.14.536899 doi:10.1101/2023.04.14.536899.
47. Kollmansperger, S. et al. (preprint) Nociception in chicken embryos, Part II: Embryonal development of electroencephalic neuronal activity in ovo as a prerequisite for nociception. *bioRxiv* 2023.04.14.536947 (2023) doi:10.1101/2023.04.14.536947.
48. Süß, S. C. et al. (preprint) Nociception in chicken embryos, Part III: Analysis of movements before and after application of a noxious stimulus. *bioRxiv* 2023.04.20.537674 doi:10.1101/2023.04.20.537674.
49. Bruijnij, M. R. N., Blok, V., Stassen, E. N. & Gremmen, H. G. J. (2015) Moral "Lock-In" in Responsible Innovation: The Ethical and Social Aspects of Killing Day-Old Chicks and Its Alternatives. *J Agric Environ Ethics* 28, 939-960.
50. Adegbenjo, A. O., Liu, L. & Ngadi, M. O. (2020) Non-Destructive Assessment of Chicken Egg Fertility. 20, 5546.
51. Göhler, D., Fischer, B. & Meissner, S. (2017) In-ovo sexing of 14-day-old chicken embryos by pattern analysis in hyperspectral images (VIS/NIR spectra): A non-destructive method for layer lines with gender-specific down feather color. *Poult Sci* 96, 1-4.
52. Corion, M., Keresztes, J., De Ketelaere, B. & Saeys, W. (2022) In ovo sexing of eggs from brown breeds with a gender-specific color using visible-near-infrared spectroscopy: effect of incubation day and measurement configuration. *Poult Sci* 101, 101782.
53. Galli, R. et al. (2018) Sexing of chicken eggs by fluorescence and Raman spectroscopy through the shell membrane. *PLoS One* 13, e0192554.
54. Galli, R. et al. (2016) In Ovo Sexing of Domestic Chicken Eggs by Raman Spectroscopy. *Anal Chem* 88, 8657-8663.
55. Galli, R. et al. (2017) In ovo sexing of chicken eggs by fluorescence spectroscopy. *Anal Bioanal Chem* 409, 1185-1194.
56. Preuße, G. et al. (2023) Highly sensitive and quick in ovo sexing of domestic chicken eggs by two-wavelength fluorescence spectroscopy. *Anal Bioanal Chem* 415, 603-613.

57. Davenel, A., Eliat, P. A., Quellec, S. & Nys, Y. (2015) Attempts for early gender determination of chick embryos in ovo using magnetic resonance imaging. in *XVIII European Symposium on the Quality of Poultry Meat and XII European Symposium on the Quality of Eggs Egg Production* 2-5.
58. Weissmann, A., Reitemeier, S., Hahn, A., Gottschalk, J. & Einspanier, A. (2013) Sexing domestic chicken before hatch: A new method for in ovo gender identification. *Theriogenology* 80, 199-205.
59. Clinton, M. *et al.* (2016) Real-Time Sexing of Chicken Embryos and Compatibility with in ovo Protocols. *Sexual Development* 10, 210-216.
60. Doran, T. J. *et al.* (2017) Sex selection in layer chickens. *Anim Prod Sci* 58, 476-480.
61. Gene-edited hens may end cull of billions of chicks - BBC News. <https://www.bbc.com/news/science-environment-63937438>.
62. Imholt, D. (2010) Morphometrische Studien an Eiern von Hybrid- und Rassehühnern mit Versuchen zur Detektion einer Beziehung zwischen der Form von Eiern und dem Geschlecht der darin befindlichen Küken: Eine oologische und mathematische Studie. Doctoral dissertation, Universitätsbibliothek Giessen
63. Yilmaz-Dikmen, B. & Dikmen, S. (2013) A morphometric method of sexing white layer eggs. *Brazilian Journal of Poultry Science* 15, 203-210.
64. SOOS - Egg Sex Determination. <https://www.soos.org.il>.
65. The Guardian (2021) Is it possible to change a chicken's sex before it hatches?. <https://www.theguardian.com/food/2021/jan/31/good-vibrations-sound-waves-eggs-ethical-slaughter-male-chicks>.
66. Ioannidis, J. *et al.* (2021) Primary sex determination in birds depends on DMRT1 dosage, but gonadal sex does not determine adult secondary sex characteristics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118, e2020909118.